

影响大豆 DNA 导入受体幼荚成活率因素的初探^{*}

王志新

(黑龙江省农科院合江农科所, 佳木斯 154007)

摘要: 对影响大豆外源 DNA 导入成活率诸多因素进行了探讨, 结果表明, 适当的 DNA 导入时间、正确选择导入花部位、适量的柱头切取、适宜的土壤水分及疏花疏荚都可显著提高 DNA 导入成活率, 成活率最高为 49%, 平均为 34.3%。

关键词: 大豆; DNA 导入; 成活率

中图分类号: S565.103.53 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2000)04-0010-02

Factors Influencing the Survival of Immature Pods of Soybean in Total DNA Introduction

Wang Zhixin

(Hejiang Agricultural Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Jiamusi 154007)

Abstract The paper researched the factors influencing the survival of immature pods of soybean in total DNA introduction through the pollen tube. The result showed that the time of DNA introduction, the position of flowers, the depth of stigma-cut, the content of soil water and the density of flowers and pods on other nodes all influenced the survival of the immature pods. The highest rate of survival was 49% in the experiment, and 34.3% in average.

Key words soybean; introduction of total DNA; survival rate

自 70 年代我国学者周光宇先生提出花粉管通道技术, 即外源 DNA 导入技术以来, 在许多作物上获得了 DNA 导入后转化成功的效果, 育成了一些高产、优质、抗病的新品种和种质资源, 展示了此项技术在农作物育种上的广阔前景。我国的大豆育种, 在育种方法上主要以有性杂交育种为主, 但近年来, 由于常规育种周期过长, 远缘杂交亲合性不好, 不能有效利用远缘血缘改良现有品种, 无论在产量、品质和适应性等方面都没有大的突破。因此, 近几年利用 DNA 导入技术导入远缘血缘, 扩大大豆的遗传基础, 在大豆育种中越来越受重视。但是还有许多因素制约着 DNA 导入技术的进一步发展, 其中, 导入成活率就是制约因素之一。我们经过几年的 DNA 导入工作, 认为 DNA 导入成活率与 DNA 提取液的质量、导入时间、花的部位、气象条件、土壤条件及操作者的操作手法和熟练程度有关。我们就其中几个主

要因素进行探讨, 供参考。

1 试验材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 受体材料 选择丰产性好、综合性状优良的品种或品系合丰 25 合丰 35 北丰 11 绥农 14 合交 93-1538 等作为受体材料。

1.1.2 供体材料 选择抗灰斑病的大豆材料合丰 29 和远缘材料红小豆 (每荚粒数多) 作为供体, 分别提取 DNA 液。此外还有 A 与 I 两种 DNA 导入液。其中合丰 29 以及红小豆的 DNA 由省农科院生物中心提供, A 与 I 两种 DNA 由哈师大生物系提供。

1.2 导入方法

我们于 1997 年、1999 年共配制组合 13 个进行外源 DNA 导入试验。并从导入时间、导入花的部位等五个因素探讨其对导入成活率的影响。具体方法为把受体材料种植于田间, 每份材料种植 1~2 行。

^{*} 收稿日期: 1999-12-16

作者简介: 王志新 (1972-), 男, 研究, 从事大豆育种研究

行长 4m,垄距 70cm,加强田间管理,确保植株生长健壮。大豆开花后,在大豆花冠的长度高于最高花萼 0.5~ 1mm,即大豆自花授粉后 6~ 32h时,用镊子去掉大豆花瓣,用刀切取柱头的 1/3~ 1/2后,把 DNA提取液滴于柱头上。

2 试验结果与分析

2.1 DNA导入的时间

选择一天中的不同时期分别导入 DNA液,从试验结果可以看出,在土壤水分充足的情况下,一天中的不同时期,导入成活率没有太大差别。但由于上午 6~ 10h,正值大豆开花最多的时候,所以适合 DNA导入的花比较多,此时气温相对较低,空气湿度偏大,对柱头损伤引起的损害程度小, DNA液体蒸发较慢, DNA导入成活率高。因此,一天中 DNA导入以此时间成活效果最好,其成活率可达到 20%~ 45%,平均 34.5%。

表 1 不同时期 DNA导入荚的成活率

年份	组合	时间 (h)	导入花 总数	成活 荚数	成活率 (%)
1997	合丰 25+ 红小豆	6~ 8	20	9	45
		8~ 10	20	8	40
		10~ 12	20	4	20
		12~ 14	20	6	30
		14~ 16	20	4	20
1999	合丰 25+ DONOR(A)	6~ 8	30	10	33
		8~ 10	30	6	20
		10~ 12	30	8	26
		12~ 14	30	8	26
	北丰 14+ DONOR(I)	12~ 14	30	8	26
		14~ 16	30	7	23

注: DNA导入时天气晴好,气温 25~ 28℃,土壤水分不足。表中组合前为受体,后为供体。红小豆与合丰 29均为其 DNA提取液,下同。

2.2 导入花的部位

经过两年的试验,我们认为 DNA导入花的选择部位,以植株中上部为好。因为在植株中上部,正值大豆盛花期,适于导入的花蕾比较多,此外,盛花期营养、水分供应比较集中,提高了导入后荚的成活率,一般荚的成活率为 21%~ 36%,平均为 28.5%。而植株中下部的花,相对来说结荚部位低,易受机械损伤及病虫害的危害,所以导入成活率低,仅为 5%左右。此外,中下部的花导入时操作也不方便。经过几年试验,我们认为植株顶端的花导入成活率也较高,但应注意疏花疏荚。

表 2 导入花部位与荚的成活率

年份	组合	导入花 部位	导入花 总数	成活 荚数	成活率 (%)
1997	合丰 25+ 合丰 29	下部	50	3	6
		中上部	50	18	36
1999	合丰 35+ DONOR(A) 绥农 14+ DONOR(I)	下部	100	4	4
		中上部	100	21	21

2.3 柱头的切取

大豆 DNA导入技术中,柱头切取大小与导入荚的成活率密切相关,从两年试验结果看,切取 1/3~ 1/2柱头比全部切除柱头导入 DNA荚的成活率明显提高,可提高 18%左右,这可能由于大豆柱头所受损伤程度小,切口较易愈合。

表 3 柱头的切取大小与荚的成活率

年份	组合	切取柱 头大小	导入花 总数	成活 荚数	成活率 (%)
1997	合丰 35+ 红小豆	全切	50	7	14
		切 1/3~ 1/2	50	16	32
1999	合交 93- 1538+ DONOR(A) 合丰 25+ DONOR(I)	全切	100	11	11
		切 1/3~ 1/2	100	29	29

2.4 土壤水分的影响

近年来,三江平原地区,在大豆 DNA导入时期,也就是每年 7月 5~ 25日左右,连年干旱少雨,因此,设置了灌水和不灌水情况下 DNA导入荚的成活率的比较。即在 DNA导入的前一天傍晚,用沟灌的方法,把受体植株灌足水,从试验结果看出,充足的土壤水分可以明显提高 DNA导入荚的成活率,最高可达 49%,平均 41.5%。

表 4 灌水和不灌水条件下 DNA导入后荚的成活率

年份	组合	灌水 情况	导入花 总数	成活 荚数	成活率 (%)
1997	合丰 25+ 红小豆	不灌	50	11	22
		灌	50	17	34
1999	合丰 35+ DONOR(I) 北丰 14+ DONOR(A)	不灌	100	19	19
		灌	100	49	49

2.5 疏花疏荚的影响

为了保证水分和营养的集中供应,提高 DNA导入荚的成活率, DNA导入后应加强导入节位的管理,及时去掉导入花周围的次生花。从试验结果可以看出,若能同时去掉导入上下节位的花和荚,可以提高导入荚的成活率。

(下转第 28页)

2 惊纹粒的防治措施

针对惊纹粒的形成原因,采取相应的防治措施,能够有效地减少裂纹米的发生

2.1 选用惊纹粒少的优质稻品种 选用惊纹粒率少,优质高产并重的品种,是防止裂纹米率高的前提条件。根据各稻区的不同生态条件,应合理选用裂纹米率比较低的米质透明的玻璃质米、垩白率低和长粒型品种

2.2 加强田间管理 根据品种子粒发育特性,满足子粒形成,结实 灌浆高峰期的肥水要求,防止早衰、恋青、青枯、倒伏等不良熟相的发生。措施上,水稻生长中期需适当控肥节水,防止旺长而倒伏,孕穗期需巧施穗肥,协调好体内碳氮化,满足水稻生理生态需水,以合理的肥水调节,促进结实^[2]。灌浆的顺利进行。适当减少氮肥施用量,减少腹白及心白,成熟期撤水不要过早,蜡熟期适时排水,为适时收割创造条件。

2.3 适时收割 适期收割是优质品种获得最佳优质米的简便方法之一。过早收割,生青米、茶色米、死米多,这些米干燥时,失水过快,脱水收缩过程中淀粉之间形成空隙^[4],容易产生裂纹米,过迟收割遇高温雨水时,惊纹粒会加剧,延后收割又比提前收割惊纹粒率高。适期收割是指品种在 8%~90%谷粒黄化时收割

2.4 提高收获质量 用机械收割时,最好改截流滚

筒式收获为轴流滚筒式收获,用该机收获可使破壳率、损失率均控制在 1.5%以内,脱粒速度控制在 1.33~1.62km/h 速度收割,场地翻晒尽量减少机械在稻谷上来回走动和推碾,可实行人工翻晒,最好改为低温烘干。

2.5 调整好低温烘干的温度与干燥率 稻谷干燥时,热空气首先使谷物表层的水分蒸发,然后米粒内部的水分向表层扩散,后者比表层水分蒸发阻力大,速度慢,只有当表层的水分蒸发后内部水分才能逐步扩散至表层而被蒸发,干燥温度过高,速度过快,使米粒内部水分很难相应扩散至表层,从而使米粒产生爆腰、龟裂^[2]。在采用机械干燥时,一般在温度 35℃以下,干燥率(每小时水分减少的量)1.5%为好,采用自然干燥时,尤其是新收的稻谷,不宜连续曝晒时间过长。

参考文献:

[1] 屈振国.水稻裂纹米的成因与防止对策研究[J].中国稻米,1997,(6):30~32
[2] 王鹤生.如何减少裂缝米[J].湖南省作物学会会刊,1984,1(4):38~39.
[3] 王鹤生.关于水稻米质的研究[J].农业现代化研究,1984,1(4):25~32
[4] 田代亨、江幡守卫.关于腹白米的研究[J].日本作物学会纪事,1975,44(2):205~213.

(上接第 11页)

表 5 疏花疏荚与导入荚的成活率

年份	组合	上下节 花荚	导入花 总数	成活 荚数	成活率 (%)
1997	合丰 25# 合丰 29	不去	50	14	28
		去掉	50	16	32
1999	绥农 14# DONOR(A) 合交 93-153# DONOR(B)	不去	100	23	23
		去掉	100	41	41

3 小结

3.1 研究结果表明,大豆 DNA 导入的时间,以天气晴好时每天上午的 6~10 时成活率最高。导入花的部位,以植株中上部的效果最好,柱头的切取,切除 1/3~1/2 时比全切荚成活率明显提高。另外,地上干旱情况下,灌水及疏花疏荚都可明显提高荚的

的成活率。

3.2 经过多年的 DNA 导入试验,我们认为 DNA 导入荚的成活率不但与本文中讨论的几个因素有关,还与 DNA 导入液的浓度、活性以及受体植株的特性(如花大小)等因素有关,总之,利用科学的操作方法,可以有效地提高 DNA 导入后荚的成活率,达到事半功倍的效果。

参考文献:

[1] 申家恒,严国忠.大豆自花授粉时花蕾形态的观察[J].中国油料,1981,(3):16~19.
[2] 周光宇,翁坚,龚蓁蓁.农业分子育种授粉后外源 DNA 导入植物技术[J].中国农业科学,1988,21(3):1~5.